

RECEIVED

JAN 3 1 2002 TEUR JENIER 1600/2900

(110> ARIAD Gene Therapeutics, Inc.

<120> Use of Heterologous Transcription Factors in Gene The rapy

- <130> 346B USC1
- < 140 > ----
- <141> 2001-10-23
- <160> 68
- <170> PatentIn version 3.0
- <210> 1
- <211> 8
- <212> PRT
- <213> herpes simplex virus 7
- <220>
- <221> DOMAIN
- <222> (1)..(8)
- <223> VP16 V8 motif
- < 400 > 1

Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly
1 5

- <210> 2
- <211> 9
- <212> PRT
- <213> herpes simplex virus 7
- <220>
- <221> DOMAIN
- <222> (1)..(9)
- <223> VP16 V9 motif
- <400> 2

Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Gly

```
1
                 5
<210>
      3
<211>
      12
<212>
      DNA
<213>
      Artificial Sequence
<220>
<221>
      misc_feature
<222> (1)..(12)
<223> ZFHD1 composite DNA-binding site
       n = A, G, T or C
< 4 0 0 >
       3
taattanggg ng
          12
<210>
       4
<211>
      18
<212>
      PRT
<213>
      homo sapien
<220>
<221>
      DOMAIN
<222> (1)..(18)
<223> glutamine rich region of Oct-2
< 400 > 4
Asn Phe Leu Gln Leu Pro Gln Gln Thr Gln Gly Ala Leu Leu Thr
Ser
1
                5
                                     10
                                                          15
Gln Pro
<210>
       5
<211> 6
<212> PRT
<213>
      homo sapien
<220>
```

```
<221> DOMAIN
<222> (1)..(6)
<223> repeat in Ewing sarcome gene
<400> 5
Ser Tyr Gly Gln Gln Ser
                5
<210> 6
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400>
atgctctaga gaacgcccat atgcttgccc t
          31
<210> 7
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(34)
<223> primer
< 400 > 7
atgcgcggcc gccgcctgtg tgggtgcgga tgtg
         34
<210> 8
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
```

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(33)
<223> primer
< 400 >
atgcgcggcc gcaggaggaa gaaacgcacc agc
          33
<210> 9
<211> 49
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(49)
<223> primer
< 400>
gcatggatcc gattcaacta gtgttgattc ttttttcttt ctggcggcg
          49
<210> 10
<211> 306
<212> DNA
<213> homo sapien
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(306)
<223> 100 aa of p65 transcription activation domain
< 400>
      10
ctgggggcct tgcttggcaa cagcacagac ccagctgtgt tcacagacct ggcat
         60
gacaactccg agtttcagca gctgctgaac cagggcatac ctgtggcccc ccaca
caact
```

gagcccatgc tgatggagta ccctgaggct ataactcgcc tagtgacagg ggccc agagg 180

cccccgacc cagctcctgc tccactgggg gccccggggc tccccaatgg cctcc tttca 240

ggagatgaag acttctcctc cattgcggac atggacttct cagccctgct gagtc agatc 300

agctcc

306

<210> 11

<211> 573

<212> DNA

<213> homo sapien

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(573)

<400> 11

gatgagtttc ccaccatggt gtttccttct gggcagatca gccaggcctc ggcct tggcc 60

ccggcccctc cccaagtcct gccccaggct ccagcccctg ccctgctcc agcca tggta 120

tcagctctgg cccaggccc agccctgtc ccagtcctag ccccaggccc tcctc aggct 180

gtggccccac ctgcccccaa gcccacccag gctggggaag gaacgctgtc agagg ccctg 240

ctgcagctgc agtttgatga tgaagacctg ggggccttgc ttggcaacag cacag accca 300

gctgtgttca cagacctggc atccgtcgac aactccgagt ttcagcagct gctga accag 360

ggcatacctg tggcccccca cacaactgag cccatgctga tggagtaccc tgagg ctata 420

actegeetag tgacageeca gaggeeceec gaeecagete etgeteeaet ggggg eceeg 480

gggctcccca atggcctcct ttcaggagat gaagacttct cctccattgc ggaca tggac $\,\,$ 540

ttctcagccc tgctgagtca gatcagctcc taa 573

- <210> 12
- <211> 36
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220>
- <221> misc feature
- <222> (1)..(36)
- <223> primer
- <400> 12

gcatgtctag agagatgtgg catgaaggcc tggaag 36

- <210> 13
- <211> 35
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (1)..(35)
- <223> primer
- <400> 13

gcatcactag tctttgagat tcgtcggaac acatg 35

- <210> 14
- <211> 33
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220>

```
<221> misc_feature
 <222> (1)..(33)
 <223> primer
 < 400 >
       14
gcacattcta gaattgatac gcccagaccc ttg
           33
<210> 15
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(33)
<223> primer
< 400>
       15
cgatcaacta gtaagtgtca atttccgggg cct
          33
<210> 16
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(36)
<223> primer
< 400>
       16
gcactatcta gactgaagaa catgtgtgag cacagc
          36
<210> 17
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
```

```
<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(36)
 <223> primer
< 400 >
        17
gcactatcta gagtgagcga ggagctgatc cgagtg
           36
<210> 18
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(36)
<223> primer
< 400>
      18
cgatcaacta gtggaaacat attgcagctc taagga
          36
<210> 19
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(36)
<223> primer
< 400>
cgatcaacta gttggcacag ccaattcaag gtcccg
          36
<210>
      20
<211> 31
```

```
<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400 >
      20
atgctctaga ctgggggcct tgcttggcaa c
          31
<210> 21
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400>
       21
atgctctaga gatgagtttc ccaccatggt g
          31
<210> 22
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(39)
<223> primer
< 400>
       22
gcatggatcc gctcaactag tggagctgat ctgactcag
          39
```

```
<210>
       23
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400>
       23
atgctctaga cttggaaccg gacctgccgc c
<210> 24
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(34)
<223> primer
< 400>
       24
gcatcactag tccagaaagg gcaccagcca atat
          34
<210>
       25
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> PEPTIDE
<222> (1)..(41)
<223> 5' end of pCGNN-ZFHD1-1FRB
<400> 25
```

Met Ala Ser Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu

```
Gly
 1
                 5
                                     10
                                                          15
Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Arg Glu Arg
Pro
             20
                                 25
                                                      30
Tyr Ala Cys Pro Val Glu Ser Cys Asp
        35
<210>
      26
<211> 134
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(134)
<223> 5' end of pCGNN-ZFHD1-1FRB
< 400>
       26
gtagaagcgc gtatggcttc tagctatcct tatgacgtgc ctgactatgc cagcc
tggga
          60
ggaccttcta gtcctaagaa gaagagaaag gtgtctagag aacgcccata tgctt
gccct
         120
gtcgagtcct gcga
         134
<210> 27
<211> 21
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> PEPTIDE
<222> (1)..(21)
<223> 3' end of pCGNN-ZFHD1-1FRB
```

Page 11

<400> 27

```
Arg Ile Asn Thr Arg Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Arg
 Ile
 1
                 5
                                      10
                                                           15
 Ser Lys Thr Ser Tyr
             20
 <210>
      28
 <211> 75
 <212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(75)
<223> 3' end of pCGNN-ZFHD1-1FRB
< 400>
       28
agaatcaaca ctagagagat gtggcatgaa ggcctggaag acgaatctca aagac
tagtt
          60
attagggatc ctgag
          75
<210> 29
<211>
      3 0
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(30)
<223> Nco/Xba to NheI primer
< 400>
       29
gaattcctag aagcgaccat ggcttctagc
          30
<210>
       30
<211> 31
```

```
<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(31)
 <223> Nco/Xba to NheI primer
< 400>
       30
gaagagaaag gtggctagcg aacgcccata t
          31
<210> 31
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(25)
<223> NheI primer
< 400>
       31
gccatggtgg ctagcctata gtgag
<210> 32
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(25)
<223> NheI primer
< 400>
      32
ggcggtgttg gctagcgtcg gtcag
          25
```

```
<210>
       33
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (1)..(27)
 <223> pSMTN3
<400> 33
Met Ala Ser Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu
Gly
1
                 5
                                     10
                                                          15
Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
            20
                                 25
<210> 34
<211>
      123
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(123)
<223>
       pSMTN3
< 400 >
       34
gaattccaga agcgcgtatg gcttctagct atccttatga cgtgcctgac tatgc
cagcc
          60
tgggaggacc ttctagtcct aagaagaaga gaaaggtgtc tagatatcga ggatc
ccaag
         120
ctt
         123
<210>
      35
<211> 222
<212> DNA
```

```
<213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc feature
 <222> (1)..(222)
 <223> 12 ZFHD binding sites
< 400>
      3.5
gctagctaat gatgggcgct cgagtaatga tgggcggtcg actaatgatg ggcgc
tcgag
          60
taatgatggg cgtctagcta atgatgggcg ctcgagtaat gatgggcggt cgact
aatga
         120
tgggcgctcg agtaatgatg ggcgtctagc taatgatggg cgctcgagta atgat
gggcg
         180
gtcgactaat gatgggcgct cgagtaatga tgggcgtcta ga
         222
<210>
      36
<211> 121
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc feature
<222> (1)..(121)
<223> Xba-HindIII fragment of CMV
< 400>
       36
tctagaacgc gaattccggt aggcgtgtac ggtgggaggt ctatataagc agagc
          60
tagtgaaccg tcagatcgcc tggagacgcc atccacgctg ttttgacctc catag
aagct
t
         121
<210>
      3 7
<211> 141
```

<211> 141

```
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(141)
<223> minimal IL2 gene promoter
<400> 37
tctagaacgc gaattcaaca ttttgacacc cccataatat ttttccagaa ttaac
agtat
          60
aaattgcatc tcttgttcaa gagttcccta tcactctctt taatcactac tcaca
gtaac
         120
ctcaactcct gccacaagct t
         141
<210> 38
<211> 304
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(304)
<223> 5 Gal4 sites + IL2 promoter
< 4 0 0 >
      38
atcgatgttt tctgagttac ttttgtatcc ccacccccc tcgagcttgc atgcc
tgcag
          60
cgaqc
        120
```

gtcggagtac tgtcctccga gcggagtact gtcctccgag cggagtactg tcctc

ggagtactgt cctccgagcg gagtactgtc ctccgagcgc agactctaga ggatc cgaga 180

acattttgac acccccataa tatttttcca gaattaacag tataaattgc atctc ttqtt 240

caagagttcc ctatcactct ctttaatcac tactcacagt aacctcaact cctgc cacaa 300

```
gctt
          304
 <210> 39
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(24)
 <223> primer
< 400>
       39
cccgtggtcc cgcgttgctt cgat
          24
<210> 40
<211>
      306
<212> DNA
<213> homo sapien
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(306)
<223>
       p65 activation domain
<400>
       40
ctgggggcct tgcttggcaa cagcacagac ccagctgtgt tcacagacct ggcat
ccgtc
          60
gacaactccg agtttcagca gctgctgaac cagggcatac ctgtggcccc ccaca
caact
         120
gageceatge tgatggagta ecetgagget ataaetegee tagtgacagg ggeee
agagg
         180
cccccgacc cagctcctgc tccactgggg gccccggggc tccccaatgg cctcc
tttca
         240
```

Page 17

ggagatgaag acttctcctc cattgcggac atggacttct cagccctgct gagtc

```
agatc 300
 agctcc
          306
 <210> 41
 <211> 72
 <212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(72)
<223> primer
< 400>
       41
ctagctaatg atgggcgctc gagtaatgat gggcggtcga ctaatgatgg gcgct
cgagt
          60
aatgatgggc gt
          72
<210> 42
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400 >
       42
atgctctaga gaacgcccat atgcttgccc t
          31
<210> 43
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
```

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(34)
<223> primer
<400> 43
atgcgcggcc gccgcctgtg tgggtgcgga tgtg
          34
<210> 44
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(33)
<223> primer
< 400>
       44
atgcgcggcc gcaggaggaa gaaacgcacc agc
          33
<210> 45
<211> 49
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(49)
<223> primer
<400> 45
gcatggatcc gattcaacta gtgttgattc ttttttcttt ctggcggcg
          49
<210> 46
<211>
      3 0
<212> DNA
```

```
<213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(46)
 <223> primer
< 400>
      46
tcagtctaga ggagtgcagg tggaaaccat
          30
<210> 47
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(40)
<223> primer
< 400>
       47
tcagggatcc tcaataacta gtttccagtt ttagaagctc
          40
<210> 48
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(28)
<223> primer
<400> 48
actgtctaga gtcagcctgg gggacgag
          28
```

<210> 49

```
<211> 43
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(43)
<223> primer
< 400 >
       49
gcatggatcc gattcaacta gtcccaccgt actcgtcaat tcc
          43
<210> 50
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
<400>
       50
atgctctaga ctgggggcct tgcttggcaa c
          31
<210> 51
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(39)
<223> primer
< 400>
       51
gcatggatcc gctcaactag tggagctgat ctgactcag
```

```
<210> 52
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> herpes simplex virus 7
 <220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (1)..(10)
 <223> VP16 C terminus
< 400 >
      52
Ser Arg Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly
<210>
      53
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400>
       53
atgctctaga gatgagtttc ccaccatggt g
          31
<210> 54
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(39)
<223>
      primer
< 400>
      54
```

gcatggatcc gctcaactag tggagctgat ctgactcag

39

```
<210> 55
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(25)
 <223> primer
 < 400>
       55
ctagagactt cgacttggac atgct
          25
<210>
      56
<211> 29
<212> DNA
      Artificial Sequence
<213>
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(29)
<223> primer
< 400>
       56
agtcccccag catgtccaag tcgaagtct
<210> 57
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(35)
<223> primer
```

```
<400> 57
 gggggacttc gacttggaca tgctgactag ttgag
           35
 <210> 58
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(31)
 <223> primer
< 400 >
       58
gatecteaac tagteageat gteeaagteg a
<210> 59
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223> primer
< 400>
       59
atgctctaga gacggggatt ccccggggcc g
          31
<210> 60
<211> 43
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(43)
<223> primer
```

```
<400> 60
gcatggatcc tcattaacta gtcccaccgt actcgtcaat tcc
 <210> 61
 <211> 41
 <212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(41)
<223> primer
< 400>
       61
ctagagacac cagtgccctg ctggacctgt tcagcccctc g
          41
<210>
      62
<211> 43
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(43)
<223> primer
< 400>
       62
ggtcaccgag gggctgaaca ggtccagcag ggcactggtg tct
          43
<210>
       63
<211> 41
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> misc_feature
```

```
<222> (1)..(41)
 <223> primer
 < 400>
        63
 gtgaccgtgc ccgacatgag cctgcctgac cttgacagca g
           41
 <210> 64
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(39)
<223> primer
< 400>
       64
gateetgetg teaaggteag geaggeteat gtegggeae
          39
<210>
      65
<211>
      13
<212> PRT
<213>
       homo sapien
<220>
<221> PEPTIDE
<222> (1)..(13)
<223> GAL4-K13
<400>
       65
Ser Arg Asp Phe Ala Asp Met Asp Phe Asp Ala Leu Leu
1
                5
                                    10
<210>
       66
<211> 14
<212> PRT
<213>
      homo sapien
```

```
<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (1)..(14)
 <223> GAL4-HSF14
 <400> 66
Asp Leu Asp Ser Ser Leu Ala Ser Ile Gln Glu Leu Leu Ser
                                      10
<210>
      67
<211>
      11
<212>
      PRT
<213>
      homo sapien
<220>
<221> PEPTIDE
<222> (1)..(11)
<223> GAL4-EWS11
< 400>
       67
Ser Arg Ser Tyr Gly Gln Gln Gly Ser Gly Ser
                5
                                     10
<210>
       68
<211>
       18
<212>
      PRT
<213>
      Artificial Sequence
<220>
<221> PEPTIDE
<222> (1)..(18)
<223> GAL4-V8x2
<400> 68
Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
Gly
1
                5
                                     10
                                                          15
```

Ser Arg